Über die Jodreaktion bei fluoreszierenden Stoffen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef Weiss,
geprüfter Medizinalpraktikant aus Auerbach, Oberpfalz.

München, 1904.
Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Über die Jodreaktion bei fluoreszierenden Stoffen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Josef Weiss,

geprüfter Medizinalpraktikant aus Auerbach, Oberpfalz.

München, 1904.

Kgl. Hof- und Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Herr Professor Dr. von Tappeiner.

Meinen lieben Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0091

Das Ergebnis der Untersuchungen von O. Raab, wonach die beträchtliche Steigerung der Giftwirkung einer Akridinlösung auf Paramäcien im Sonnenlichte im Gegensatz zum zerstreuten Tageslicht beziehungsweise der Dunkelheit als eine bisher nicht beobachtete Lichtwirkung aufzufassen sei, bot v. Tappeiner Anlass, Stoffe mit der gleichen optischen Eigenschaft wie das Akridin, nämlich der der Fluorescenz, auf ihr Verhalten zu Paramäcien zu prüfen. Als Resultat ergab sich, dass eine Reihe weiterer fluoreszierender Körper diese Lichtwirkung zeigen, während die untersuchten nichtfluoreszierenden Stoffe mit ähnlicher Absorption wie die untersuchten fluoreszierenden Körper die Lichtwirkung vermissen lassen. Nachdem ferner Jakobson im Winter 1900 dieselbe Wirkung auch auf höher differenzierte Zellen sich erstreckend gefunden hatte, folgte im Winter 1903 die Entdeckung von v. Tappeiner und Jodlbauer, dass die gleiche schädigende Wirkung fluoreszierender Stoffe im Lichte auch chemische Körper, wie Fermente und Toxine, treffe. Für diese Wirkung führte v. Tappeiner die Bezeichnung „photodynamische Wirkung“ ein.

Die zuletzt genannten beiden Autoren eröffneten einen weiteren Einblick in das Wesen der photodynamischen Wirkung durch Feststellung der Tatsache, dass für das Zustandekommen derselben die von dem fluoreszierenden Stoffe absorbierte strahlende Energie massgebend sei.

Eine Erklärung, wie nun die weitere Umsetzung dieser Energie erfolge, ist verschiedentlich vom Münchner pharmakologischen Institut versucht worden, jedoch ohne abschliessen-

des Urteil. Nun hat Straub für Eosin und Chininsulfat und gleichzeitig v. Tappeiner und Jodlbauer für eine Reihe anderer fluoreszierender Körper nachgewiesen, dass durch sie eine Sauerstoffübertragung stattfindet. Neben anderen Reaktionen, die zum Nachweis aktiven O angestellt wurden, kam hierbei die mit Jodkalium zur Verwendung.[1])

Es war daher von Interesse, diese letztgenannte Reaktion auf die meisten fluoreszierenden Körper auszudehnen und zugleich durch Titrieren der bei der Reaktion gebildeten Jodstärke mit Natriumthiosulfat die Intensität der Jodabspaltung festzustellen. Dieses Thema hat mir Herr Professor v. Tappeiner auf meine Bitte um eine Dissertationsarbeit gütigst überlassen.

Straub brachte in der oben erwähnten Arbeit Eosin- und Chininsulfatlösung mit Jodkalium für einige Minuten in die Sonne, setzte darauf im Dunkeln Stärkelösung zu, worauf sich eine deutliche Blaufärbung einstellte; ebenso trat letztere auf, wenn er Stärke schon vor der Belichtung zusetzte. Die durch das bei der Belichtung frei gewordene Jod bedingte Blaufärbung lässt sich durch Zusatz von Natriumthiosulfat wieder beseitigen. Aus der Menge des verbrauchten $Na_2 SO_3$ kann auf die Menge des frei gewordenen Jods und weiterhin des aktivierten O geschlossen werden. Auf Grund seiner Untersuchungen wies Straub nun auf

[1]) In den Versuchen v. Tappeiners und Jodlbauers, die Intensität der durch den aktiven Sauerstoff unter Einwirkung von Licht und fluoreszierender Substanz geleisteten Oxydation festzustellen, ist noch anzufügen, dass Glykose, in 0,3 % kohlensaurem Natron gelöst, auch bei Durchleiten von Sauerstoff durch die Lösung die photodynamische Reaktion nicht zeigt. Benzylalkohol geht bei derselben Versuchsanordnung (Durchleiten von Sauerstoff durch die in offener Schale befindlichen, von direkten Sonnenstrahlen belichteten, mit 0,01 % Rose bengale versetzten Lösungen) in Benzylaldehyd über, der am Geruche leicht kenntlich ist. Eine vermehrte Bildung von Benzoësäure unter dem Einflusse der photodynamischen Substanz ist aber nur in Spuren vorhanden.

zwei die Reaktion beeinflussende Faktoren hin, deren Berücksichtigung bei der quantitativen Jodbestimmung notwendig ist:

1. auf die Dichte der Jodkalilösung — je dichter dieselbe, desto mehr Jod nimmt sie bei gleicher Eosinkonzentration und gleicher Belichtung auf —;
2. auf die Dichte der Eosinlösung — mit deren Steigen nach seiner Ansicht die Jodspaltung proportional wachse —.

Versuche, die gelegentlich der vorliegenden Arbeit angestellt wurden, ergaben jedoch, dass diese letztere Feststellung insoferne zu korrigieren ist, als die Intensität der Jodabspaltung mit der Eosinkonzentration sich nur bis zu einem bestimmten Höhepunkt erhebt und dann wieder fällt, so dass eine Kurve entsteht, die wieder zur Abscissenachse zurückläuft.[1]) Es wurde folgender Versuch gemacht:

Jodkaligehalt 3%, Stärkegehalt 0,1%.

Belichtung in der Sonne von 12^{10}—12^{25}.

Eosin in %	Titrierungsflüssigkeit (0,02% Na_2SO_3)
0,00025	1,5 ccm.
0,0005	2,0 „
0,00125	2,1 „
0,0025	2,6 „
0,025	3,1 „
0,25	1,3 „
0,5	1,0 „

Der Versuch wurde nach der später zu schildernden Weise so angestellt, dass sieben Schälchen mit 20 ccm Jodkalieosinstärkelösung zu den oben angegebenen Konzentra-

[1]) Inzwischen ist Straub durch weitere Versuche zu einem Resultate gelangt, das sich mit dem unseren deckt. Der freundlichen Zusendung eines Korrekturbogens einer noch nicht publizierten Arbeit an das Münch. pharm. Institut verdanke ich diese Kenntnis.

tionen gleichzeitig 15 Minuten dem Sonnenlichte ausgesetzt wurden.

Wir erreichen also das Optimum der Jodabspaltung, soweit dieselbe von der Eosinkonzentration abhängt, bei 0,025 % Eosin. Grössere Konzentrationen wirken hemmend; es beruht dies eben darauf, dass bei hohen Konzentrationen des Eosins das Eindringen der wirksamen Strahlen in die Tiefe verhindert wird; da gerade die Strahlen, die von der betreffenden Lösung absorbiert werden, das Wirksame sind, ist eine Tiefenwirkung bei höheren Konzentrationen, in denen diese Absorption schon vollständig an der Oberfläche erfolgt, ausgeschlossen.

Als einen dritten Faktor, der bestimmend für die Intensität der Jodabspaltung ist, stellt Jodlbauer noch die Dichte der Stärkelösung auf.[1])

Folgender Versuch zeigt uns die Richtigkeit der Ansicht von Jodlbauer:

Belichtung: Sonne 12^{20}—12^{35}.

1. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,002 Eosin + 0,01 Stärke verbrauchen 4,9 ccm Na_2SO_3.
2. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,002 Eosin + 0,05 Stärke verbrauchen 8,4 ccm Na_2SO_3.
3. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,002 Eosin + 0,2 Stärke verbrauchen 15,4 ccm Na_2SO_3.

Bei den quantitativen Versuchen ist aber ein hoher Stärkegehalt jedenfalls unzweckmässig, da die Titration durch die dichten Jodstärkeklumpen sehr erschwert ist und ungenauer wird als bei geringem Stärkegehalt, wobei diese Klumpen nicht auftreten.

Es ist somit der wesentlichste Faktor der von Straub angegebene hohe Jodkaligehalt, der es erst möglich macht,

[1]) Münchener mediz. Wochenschr. 1904, Nr. 26.

bei den meisten untersuchten fluoreszierenden Stoffen positiven Ausfall der Reaktion zu erhalten. Warum sind nun aber so grosse Jodkalimengen zum positiven Ausfall der Reaktion nötig?

Man könnte vermuten, dass es der Salzgehalt wäre, was die Reaktion so fördert. Es wurden zu diesem Zwecke zwei Schalen mit verschiedenem Kochsalzgehalt im Reaktionsgemisch, jedoch gleichem Eosin-, Jodkali und Stärkegehalt gleichlange der Sonne ausgesetzt. Bei der Titration fand sich in der einen Lösung ohne Kochsalzsusatz der Jodgehalt 1,7 ccm Na_2SO_3 entsprechend, in der anderen dagegen mit 3 % NaCl entsprach er nur 1,2 ccm Na_2SO_3.

Es tritt also das Gegenteil unserer obigen Vermutung ein. Das Zurückbleiben der mit NaCl versetzten Probe hinter der anderen ist jedoch nicht als eine Hemmung des Reaktionsprozesses durch das NaCl aufzufassen, beruht vielmehr auf der Aussalzung des Eosins durch NaCl; der Prozess der Jodabspaltung an sich aber wird durch Salzzusatz nicht beeinflusst, wie uns ein Versuch zeigt. Bringen wir nämlich zu dem gewöhnlichen Reaktionsgemisch von 0,1 % Stärke und 0,3 % JK noch 2 % NaCl, so bleibt das zugesetzte Eosin in Lösung und es ergibt sich bei der Titration ungefähr der gleiche Wert wie für Eosin ohne NaCl; setzen wir dagegen 3 % NaCl zu, so fällt Eosin bei längerem Stehen aus und dementsprechend ist dann der Gehalt an frei gewordenem Jod niedriger.

Beleg:

Belichtung: 30 Minuten in Sonne.

1. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin ohne NaCl verbrauchen 0,6 ccm Na_2SO_3.
2. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 0,4 NaCl verbrauchen 0,7 ccm Na_2SO_3.

3. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 0,6 Na Cl verbrauchen 0,5 ccm Na_2SO_3.
4. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 0,4 Na Cl verbrauchen 2,0 ccm Na_2SO_3.
5. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 0,6 Na Cl verbrauchen 1,8 ccm Na_2SO_3.
6. 20 ccm mit 0,2 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 0,8 Na Cl verbrauchen 1,6 ccm Na_2SO_3.

Als eine weitere Frage war die zu entscheiden: Wirkt die Stärke nur als jodaufnehmender Körper oder hat sie auch etwas bei der Jodabspaltung zu tun? Man könnte a priori geneigt sein, letzteres anzunehmen, da, wie ja gezeigt, bei Mehrzusatz von Stärke die Reaktion intensiver verläuft. Um diese Annahme zu stützen oder auch entkräften, legten wir uns zuerst die Frage vor, ob die Erhöhung der Viskosität der Lösung durch Stärke etwa an der vermehrten Jodabspaltung schuld sei. Wir gingen dabei folgendermassen vor: Eine Schale wurde mit 20 ccm einer gewöhnlichen Lösung von 0,1% Stärke- und 0,3% Jodkaligehalt + ½ ccm 1% Eosinlösung gefüllt; dazu 5 ccm zähflüssiger Gelatine; eine zweite Schale wurde ebenso gefüllt, statt der Gelatine aber wurden 5 ccm Wasser nachgegeben; beide Schalen kamen 15 Minuten in Sonne, wurden alsdann titriert, wobei sich für die gelatinfreie Mischung der Titrationswert 1,6 ccm, für die gelatinhaltige nur 0,3 ccm herausstellte. Das letztere Reaktionsgemisch war offenbar durch die Erhöhung der Viskosität durch den Gelatinezusatz schwerer beweglich geworden — es zeigte während der Belichtung auch weniger lebhafte Bewegung als die gelatinfreie Schale — und erschwerte somit dem O der Luft das Eindringen.

Es ist also die Viskosität der Stärkelösung kein die Jodabspaltung förderndes Moment.

Des weiteren fragten wir uns, ob vielleicht den feinsten

Suspensionen, wie sie in der Stärkelösung enthalten sind, eine Bedeutung zukomme. Wir gaben zur Entscheidung dieser Frage einem gewöhnlichen Eosinjodkalistärkegemisch einige Tropfen einer alkoholischen Mastixlösung zu, welche eine ziemlich gleichmässige Trübung der Lösung verursachte. Der Erfolg war ein negativer; der Ablauf der Reaktion wurde nicht beeinflusst. In einem zweiten Versuche setzten wir statt des Mastix etwas Kaolinpulver zu, ebenfalls mit negativem Erfolge. Das Kaolinpulver senkte sich trotz der feinen Verreibung in einer Reibschale zu Boden und riss den Eosinfarbstoff mit sich, was wohl den erheblich geringeren Titrierungswert für dieses Gemisch verursacht hat.

Beleg:

Belichtung in Sonne 15 Minuten.

1. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin verbrauchen 1,3 ccm Na_2SO_3.
2. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + 2 Tropfen Mastix verbrauchen 1,3 ccm Na_2SO_3.
3. 20 ccm mit 0,06 Jodkali + 0,02 Stärke + 0,005 Eosin + Kaolinpulver verbrauchen 0,5 ccm Na_2SO_3.

Somit haben wir keinen Anhaltspunkt dafür, dass die Stärke die Reaktion anders beeinflusse, als dass sie eben das freigewordene Jod wegführt.

Da wir bei vielen und gleich den ersten unserer nun folgenden Untersuchungen von dem Resultate biologischer Untersuchungen sehr abweichende Ergebnisse bekommen haben, so sei es mir schon hier gestattet, darauf aufmerksam zu machen, dass der Vergleich zwischen dem Ausfall beider Reaktionen bei den einzelnen Stoffen eine Identifizierung der photodynamischen Wirkung und der jodabspaltenden Wirkung nicht zulässt.

Bei der vorliegenden Arbeit sind fast alle Stoffe, die v. Tappeiner und Jodlbauer zum Studium der photo-

dynamischen Wirkung auf Protozoen und Enzyme verwandten, zur Untersuchung gelangt. Um ein konstantes Vergleichsobjekt zu haben, sind sämtlichen Versuchen Eosinproben in den jeweiligen Konzentrationen beigefügt worden, da das Eosin in seinem Verhalten am genauesten erprobt ist. Die Ausführung der Versuche wurde folgendermassen gehandhabt:

Gruppen von chemisch verwandten Körpern wurden jeweils in eine Versuchsreihe zusammengenommen; nach Möglichkeit wurden gleichprozentige Lösungen dieser Stoffe hergestellt, die, frisch bereitet, im Dunkeln aufbewahrt wurden. Alsdann wurden Schälchen mit 20 ccm einer Jodkalistärkelösung — am besten hat sich eine Lösung von 3% Jodkali- und 0,1% Stärkegehalt bewährt — gefüllt und darauf im Dunkelzimmer je ein halber Kubikzentimeter der zu untersuchenden fluoreszierenden oder nicht fluoreszierenden Lösung beigegeben. Erwiesen sich diese Konzentrationen der beigegebenen photodynamischen Stoffe nicht als wirksam, so wurde eine zweite Versuchsanordnung angewandt, in der 10 ccm einer 6% Jodkali- und 0,2% Stärkelösung mit 10 ccm Substanzlösung zusammengebracht wurden. Gewöhnlich genügte es, die so vorbereiteten Reaktionsgemische ungefähr 15 Minuten bei geschlossenem Fenster an der Sonne stehen zu lassen. Die Fenster sind geschlossen, um die Bewegung der Flüssigkeit durch den darüber streichenden Wind auszuschliessen und so die Resultate genauer zu machen; nur bei den ultraviolett absorbierenden Stoffen wurden die Versuche bei offenem Fenster gemacht, da die ultravioletten Strahlen durch Glas resorbiert werden. Der Beginn der Reaktion erfolgt beim Eosin schon nach etwa 15 Sekunden; es bilden sich unter deutlicher Strömung der Flüssigkeit sehr schöne, verästelte, blaugefärbte Figuren aus, die von den Rändern aus beginnen. Will man die Reaktion abbrechen, so werden die Schalen in einen dunklen Raum

gebracht und von da aus rasch nacheinander zur Titration hervorgeholt. Zur letzteren verwendeten wir eine 0,02% Natriumthiosulfatlösung; es wurde, während Na_2SO_3 zutropfte, fleissig mit einem mit Gummikappe versehenen Glasstabe umgerührt. Um den Moment der beendeten Titration rechtzeitig zu erkennen, stellte ich vielfach Kontrollfarben in wässeriger Lösung her; die Übung macht sie überflüssig. Viele Farbstoffe erlangen nicht mehr ihre ursprüngliche Reinheit; es empfiehlt sich hier, Doppelversuche anzustellen. Die sich ergebenden Titrierwerte wurden später sämtliche auf Eosin, dessen Wert gleich 1,0 gesetzt wurde, umgerechnet.

Im einzelnen braucht wohl auf diese Punkte bei Aufstellung der Tabellen nicht mehr hingewiesen werden.

I. Substanzen mit Absorption im sichtbaren Teile des Spektrums.

Versuch: Stärkelösung 0,1%; Jodkali 3%; fluoreszierende Substanz 0,025%.

Belichtung: 15 Minuten in der Sonne, dann Titration der Jodstärke mit 0,02% Na_2SO_3. Die Zahlen geben die bei der Titration verbrauchten Kubikzentimeter Na_2SO_3 an.

Wirkliche Werte.

(Jede vertikale Reihe stellt einen Versuch dar.)

Fluorescein	—	—	3,6	3,5	—
Dichlorfluorescein	—	—	—	—	5,0
Tetrachlorfluorescein	—	—	—	—	4,3
Dibromfluorescein	3,7	3,5	—	—	—
Tetrabromfluorescein	3,2	2,4	2,3	2,9	3,7
Dijodfluorescein	3,7	3,3	—	—	—
Tetrajodfluorescein	3,75	3,45	—	—	—
Dichlortetrabromfluorescein	—	—	3,45	—	—
Dichlortetrajodfluorescein	—	—	4,4	—	—
Tetrachlortetrajodfluorescein	—	—	4,0	4,05	—
Diäthylrhodaminsulfosäure	—	—	3,4	—	—
Tetranitrofluorescein	—	—	0	—	—

Substanz: 0,0025%.

Tetrabromfluorescein 2,25

Diäthylrhodaminäthylester 0,2.

Umgerechnete Werte. (Eosin = 1,0.)

Fluorescein	—	—	1,5	1,2	—
Dichlorfluorescein	—	—	—	—	1,4
Tetrachlorfluorescein	—	—	—	—	1,2
Dibromfluorescein	1,2	1,4	—	—	—
Tetrabromfluorescein	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Dijodfluorescein	1,2	1,4	—	—	—
Tetrajodfluorescein	1,2	1,4	—	—	—
Dichlortetrabromfluorescein	—	—	1,5	—	—
Dichlortetrajodfluorescein	—	—	1,9	—	—
Diäthylrhodaminsulfosäure	—	—	1,5	—	—
Tetranitrofluorescein	—	—	0	—	—
Tetrachlortetrajodfluorescein	—	—	1,7	1,4	—

Aus der Tabelle ersieht man, dass die Intensität der Jodabspaltung durch die Körper dieser Reihe keine wesentlichen Abweichungen von einem Mittelwert zeigt. Dichlortetrajodfluorescein und Tetrachlortetrajodfluorescein (die Rose bengale) ergeben die höchsten Werte. Sehr auffallend ist, dass das Fluorescein Na besser wirkt als Eosin. Es ist zu vermuten, dass diese bessere Wirkung von der grösseren Anzahl von Fluoresceingruppen im Fluorescein gegenüber der im Eosin bei gleichprozentigen Lösungen abhängt, da das Molekulargewicht des Eosin fast doppelt so gross ist (648) als das des Fluorescein (331). Würden wir äquimolekulare Lösungen der untersuchten Stoffe verwenden, so müssten die Unterschiede verschwinden.

Versuch mit äquimolekularen Lösungen ($^1/_{1000}$ äquimolekular). (Anordnung wie oben):

	Wirkliche Werte	Umgerechnete Werte
Fluorescein	3,5	0,9
Dibromfluorescein	4,1	1,0
Tetrabromfluorescein	4,0	1,0
Dijodfluorescein	5,0	1,2
Tetrajodfluorescein	5,2	1,3

Während also in dem Versuche mit prozentualen Lösungen das Fluorescein sich höher einstellt als das Eosin, bleibt es hier etwas zurück. Es löst sich aber, wie oben angedeutet, dieser scheinbare Widerspruch dadurch sehr einfach, dass in den äquimolekularen Lösungen gleiche Mengen der nach unserer Anschauung die Wirkung in erster Linie bedingenden Fluoresceingruppen vorhanden sind. Es stellen sich deshalb die Werte im Äquimolekularversuch in dem Masse als gleich heraus, als sie nicht durch einen zweiten massgebenden Faktor, die Einschaltung von Substitutionsprodukten, eine Änderung erfahren haben. In diesem letzteren Sinne ersehen wir aus der Tabelle: Die gejodeten Fluoresceine wirken stärker als die gebromten, letztere wieder stärker als die Fluoresceine allein.

Bevor wir uns auf einen Vergleich dieser Resultate mit den photodynamischen Wirkungen einlassen, sei hier erwähnt, dass wie bei der Paramäcien- so auch bei dieser Reaktion die ganze Lichtwirkung von den Strahlen abhängt, welche die Lösung absorbiert, denn sie bleibt aus, wenn man Strahlenfilter vorlegt, die mit derselben Lösung gefüllt sind, sie kommt aber, wenn man solche vorlegt, die nur jene Strahlen durchlassen, welche die verwendete photodynamische Substanz absorbiert. Trotz dieser Ähnlichkeit der photodynamischen Wirkung und der Jodabspaltung im Lichte ergeben sich bei Vergleich der einzelnen fluoreszierenden Körper in diesen beiden Wirkungen sehr auffällige

Unterschiede. So ist es merkwürdig, dass das Fluorescein in seinen Lösungen auf Paramäcien sehr schwach einwirkt, dieselben in Lösungen von 1 : 4000 im Lichte bereits nicht mehr tötet, während z. B. das Dibromfluorescein dies noch in Konzentrationen von 1 : 50000 tut; das Dijodfluorescein in solchen von 1 : 100000; dabei zeigen sie doch sehr geringe Abweichungen in der Jodabspaltung. Suchen wir eine Erklärung, so können wir die verschiedenartige Fähigkeit, in den Zelleib einzudringen, herbeiziehen; es würde das Jodsubstitut leichter einzudringen vermögen, als das des Brom, dieses wieder leichter als das reine Fluorescein. Wir sind bei dieser Erklärung von der Annahme ausgegangen, dass die photodynamische Wirkung identisch ist mit der chemischen Reaktion. Es ist diese Annahme aber sehr wenig wahrscheinlich, denn wir müssten zur Erklärung der photodynamischen Wirkung auf Enzyme und Toxine, wenn sie von der Jodreaktion abweicht, eine weitere, sehr wenig wahrscheinliche Hypothese aufstellen, da wir ja von einem verschiedenartigen Eindringen in chemische Stoffe nicht reden können. Tatsachen, wie das Versagen des Fluoresceins und der gechlorten Fluoresceinverbindungen, müssten etwa durch Annahme von Seitenketten der Enzyme verständlich gemacht werden, die gewisse fluoreszierende Stoffe binden und dadurch die photodynamische Wirkung hervorrufen (vergl. Ehrlichs Seitenkettentheorie bei Immunität).

Es bleibt demnach doch das wahrscheinlichste, dass eine Verschiedenheit zwischen diesen beiden Wirkungen besteht, resp. dass zu der Entfaltung der photodynamischen Wirkung noch ein zweiter, uns noch unbekannter, aber die photodynamische Wirkung wesentlich bestimmender Faktor hinzukommen muss.

Ähnliche Betrachtungen liessen sich auch für die folgenden Gruppen anstellen.

Anthracen-Gruppe.

Lösungen wie bei der Fluoresceingruppe.

Belichtung: 15 Minuten.

	Wirkliche Werte		Umgerechnete Werte	
	Substanz 0,0025 %	Substanz 0,00025 %	Substanz 0,0025 %	Substanz 0,00025 %
Tetrabromfluorescein Na . . .	2,0	2,0	1,0	1,0
α-Anthracendisulfosaures Na .	1,8	1,4	0,9	0,7
β- „ .	2,0	1,6	1,0	0,8
Dichloranthracendisulfosaures K.	2,7	2,0	1,3	1,0
Anthracen-α-monosulfosaures K.	—	0,8	—	0,4

Es geben also alle Körper dieser Gruppe die Reaktion in ziemlicher Stärke und annähernd gleich; nur das Anthracen-α-monosulfosaure K bleibt etwas zurück; wegen seiner Schwerlöslichkeit konnte es in höherer Konzentration nicht untersucht werden. Bezüglich des α-Anthracendisulfosauren Na im Vergleich zur etwas stärker wirkenden entsprechenden β-Verbindung gibt uns die Fluorescenz wohl einen Anhaltspunkt zur Erklärung; es fluoresziert nämlich die stärker wirkende β-Verbindung stärker als die α-Verbindung.

Akridin-Gruppe.

Lösung wie oben.

Belichtung: 50 Minuten in zeitweilig verdecktem Sonnenlicht.

Wirkliche Werte.

	Substanz 0,025 %	Substanz 0,005 %	Substanz 0,0025 %
Eosin	4,9	4,4	2,0
Salzsaures Akridin	6,1	—	3,5
„ Methylphosphin	—	4,5	1,7
Salpetersaures Methylphosphin	—	3,2	0,5
Chrysanilin	0,8 (Substanz fällt aus)	—	— (Substanz fällt aus)
Benzoflavin	—	1,0 (Substanz fällt aus)	— (Substanz fällt aus)

Umgerechnete Werte.

	Substanz 0,025 %	Substanz 0,005 %	Substanz 0,0025 %
Eosin	1,0	1,0	1,0
Salzsaures Akridin	1,4	—	1,7
„ Methylphosphin	—	1,0	0,9
Salpetersaures Methylphosphin	—	0,7	0,4
Chrysanilin	?	?	?
Benzoflavin	?	?	?

Reaktion wiederum bei allen Gliedern der Gruppe, doch lässt sich ihre Intensität nicht bestimmen beim Chrysanilin und Benzoflavin, da diese Körper auch in geringen Konzentrationen ausfallen, verursacht durch das Jodkali. Bei den übrigen ist die Reaktion eine mässig kräftige, während die photodynamische Wirkung eine ausserordentlich hohe ist, also auch hier keine vollkommene Übereinstimmung zwischen photodynamischer Wirkung und Jodreaktion.

Phenazin-Gruppe.

Lösung wie oben.

Belichtung: 15 Minuten in Sonne; zum Teil 1½ Stunden.

Wirkliche Werte.

	Substanz 0,00025 %	Substanz 0,000625 %	Substanz 0,0025 %
Eosin	1,7	3,1	4,5
Phenazinchlorid	0,5	—	—
Diamidophenazinchlorid	0,4	—	—
Phenosafraninchlorid	—	—	0,6
Toluylenrot	—	—	Spuren. Subst. fällt aus
Fluorindindisulfosaures Na	—	—	7,1
Azokarmin	—	—	0
Rosindulinchlorid	—	0,7	—

Umgerechnete Werte.

	Substanz 0,00025 %	Substanz 0,000625 %	Substanz 0,0025 %
Eosin	1,0	1,0	1,0
Phenazinchlorid	0,3	—	—
Diamidophenazinchlorid	0,2	—	—
Phenosafraninchlorid	—	—	0,1
Toluylenrot	—	—	?
Fluorindindisulfosaures Na	—	—	1,6
Azokarmin	—	—	0
Rosindulinchlorid	—	0,2	—

Die Stoffe dieser Gruppe geben also die Jodreaktion zum Teil in geringem Grade, zum Teil gar nicht, so das Azokarmin. Letzterer Stoff fluoresziert äusserst schwach; er zeigt auch in Konzentrationen von 0,25% nach langem Stehen keine Spur von Jodreaktion; dagegen hat es noch deutliche photodynamische Wirkung. Es liegt die Annahme nahe, dass hier der zur Jodabspaltung erforderliche Fluorescenzgrad nicht erreicht wird; ähnliches bietet ja auch die Anthracengruppe mit der schwach fluoreszierenden α- und der stärker fluoreszierenden β-Anthracendisulfosäure.

Endlich fällt uns die im Vergleiche zu den anderen Gliedern der Gruppe überaus starke Wirksamkeit der Fluoridindisulfosäure auf; sie fluoresziert als Na-Salz sehr schön und deutlich. Gleichwohl zeigt sie keine photodynamische Wirkung. Die Untersuchungen v. Tappeiners und Jodlbauers, die an den von einer Fluoridindisulfosäure abcentrifugierten und in Kochsalzlösung gründlich gewaschenen Paramäcien keine Spur von Blaufärbung nachweisen konnten, sprächen wohl dafür, dass das Versagen der photodynamischen Wirkung auf der Unfähigkeit dieses Stoffes, in den Zelleib einzudringen, beruhe. Mit etwas mehr Recht wird man aber wohl auch hierin einen Beweis

für die schon öfter betonte Verschiedenheit der photodynamischen Wirkung und der Jodabspaltung im Lichte durch fluoreszierende Körper erblicken. Insbesonders spricht für letztere Anschauung die Tatsache, dass auch Enzyme und Toxine durch die Fluoridindisulfosäure nicht nachweisbar geschädigt werden.

Da die Untersuchung beim Äskulin ganz ähnliches ergab, mag es hier gleich eingereiht werden:

Wirkliche Werte.

	Substanz 0,0125%	Substanz 0,05%	Substanz 0,25%
Eosin	1,8	2,8	1,2
Äskulin	1,1	3,8	5,7

Umgerechnete Werte.

	Substanz 0,0125%	Substanz 0,05%	Substanz 0,25%
Eosin	1,0	1,0	1,0
Äskulin	0,6	1,4	4,8

Die Jodwirkung des Äskulins ist besonders in stärkeren Konzentrationen eine sehr beträchtliche; dagegen ist die photodynamische Wirkung äusserst schwach, kaum erkennbar; der Invertierungsprozess wird durch die Substanz im Licht wie im Dunkeln gleichmässig gefördert.

Gruppe der Chinolinfarbstoffe.

	Wirkliche Werte Substanz 0,00025%	Umgerechnete Werte
Eosin	1,7	1,0
Chinolinrot	1,7	1,0
Chinolinblau (Cyanin) . . .	0	0

Die Stoffe dieser Gruppe zeigen kein besonderes Verhalten; das Cyanin kann wegen seiner Schwerlöslichkeit nur in verdünnten Lösungen untersucht werden; da es ausserdem im Lichte sehr rasch abbleicht, dürfen weitgehende Schlüsse aus dem negativen Ausfall der Reaktion nicht gezogen werden.

II. Substanzen mit Absorption im Violett resp. Ultraviolett.

Naphthalingruppe.

Lösung wie gewöhnlich.

Belichtung: 15 Minuten in der Sonne für die reagierenden Stoffe. 24 Stunden für nichtreagierende Stoffe.

Wirkliche Werte.

	Substanz 0,00125 %	Substanz 0,0025 %	Substanz 0,25 %	Substanz 0,5 %
Eosin	2,7	5,7	1,2	—
α-Naphtholtrisulfosäure	0	—	0	—
β- „	—	1,8	—	—
Amidonaphtholmonosulfosäure	—	0,8	—	—
α-Naphthylamindisulfosäure	—	0	—	0
β- „	4,0	—	—	—
Natriumnaphthionat	—	0	—	0
Naphtsultandisulfosäure	1,6	—	—	—
γ-Phenylchinaldin	Spuren	—	5,6?	—
Salzsaures Harmalin	5,6	—	—	—
Chininsulfat	Spuren	—	—	—

Umgerechnete Werte.

	Substanz 0,00125 %	Substanz 0,0025 %	Substanz 0,25 %	Substanz 0,5 %
Eosin	1,0	1,0	1,0	1,0
α-Naphtholtrisulfosäure	0	—	0	—
β- „	—	0,3	—	—
Amidonaphtholmonosulfosäure	—	0,1	—	—
α-Naphthylamindisulfosäure	—	0	—	0
β- „	1,5	—	—	—
Natriumnaphthionat	—	0	—	0
Naphtsultandisulfosäure	0,6	—	—	—
γ-Phenylchinaldin	?	—	?	—
Salzsaures Harmalin	2,1	—	—	—
Chininsulfat	?	—	—	—

Bei dem γ-Phenylchinaldin tritt die Reaktion sehr spät auf, erst nach mehreren Stunden; dabei bilden sich dann häufig feste konglomerierte Jodstärkeschollen, die ein genaues Titrieren so sehr beeinträchtigen, dass Verhältniswerte sehr unzuverlässig wären; bei anderen Gliedern der Gruppe fehlt die Reaktion vollständig.

Das auffällige Ergebnis, dass von einer Verbindung die eine mit α-Stellung nicht reaktionsfähig ist, während die andere eine deutliche Reaktion ergibt, zwingt uns, die Körper in ihrem sonstigen Verhalten miteinander zu vergleichen:

Die Fluorescenz ist beim α-Naphthol schwächer wie beim β-Naphthol; wollte man jedoch damit den negativen Ausfall der Jodreaktion bei ersterem erklären, so lässt uns diese Erklärung bei der α- und β-Naphthylamindisulfosäure im Stiche, die beide sehr deutlich fluoreszieren, die nicht jodabspaltende α-Säure zum mindesten ebensogut wie die β-Säure.

Die photodynamische Wirkung läuft ebenfalls nicht parallel der Jodreaktion; es zeigt die chemisch nicht reagierende α-Naphtholtrisulfosäure eine stärkere Paramäcienwirkung als die entsprechende jodabspaltende β-Verbindung. Würde man trotz dieser Unregelmässigkeit noch an einer Identität der photodynamischen Wirkung und der Jodabspaltung festhalten wollen, so wäre nicht einzusehen, wie es komme, dass hier der Satz v. Tappeiners und Jodlbauers „Der biologische Nachweis der photodynamischen Wirkung ist der Jodreaktion an Empfindlichkeit und Sicherheit weit überlegen“[1]) keine Geltung hat; denn nach diesem Satze müsste man doch erwarten, dass die Jodreaktion bei

[1]) Münchener mediz. Wochenschrift 1904, Nr. 26.

der photodynamisch stärkeren α-Naphtholtrisulfosäure eher auftrete als bei der β-Säure. Das Gegenteil ist der Fall.

Diese Erwägungen zusammenfassend, werden wir zu der früher schon ausgesprochenen Ansicht uns entscheiden: Die photodynamische Wirkung ist ein Vorgang für sich, der mit der Jodreaktion nicht zu identifizieren ist. Letztere läuft nur neben der ersten einher, braucht aber nicht immer da zu sein, wenn erstere vorhanden ist. Eine Regel für das Auftreten oder Fehlen der Jodreaktion bei Auftreten der photodynamischen Wirkung gibt es zur Zeit noch nicht.

Zu besprechen wäre noch der schwach positive Ausfall bei γ-Phenylchinaldin und Chininsulfat. Es rührt dies davon her, dass durch den Zusatz von Jodkali beide Körper wesentlich oder fast vollständig ihre Fluorescenz verlieren. Auf Chinin wirken alle Halogenionen die Fluorescenz aufhebend, eine Tatsache, die Stokes fand.[1])

Der zweite wesentlich kürzere Teil meiner Arbeit wird sich mit der Frage zu befassen haben, ob die jodabspaltende Wirkung in Zusammenhang mit der Fluorescenz steht oder ob sie eine reine Absorptionserscheinung ist. Gegen den letzteren Punkt spricht mit Bestimmtheit der Umstand, dass von einer Reihe stark absorbierender Substanzen mit ähnlicher Absorption, wie die bisher besprochenen fluoreszierenden Körper, alle diese Reaktion nicht gaben; so verhält sich negativ die Reihe: Fuchsin, Azofuchsin, Azobordeaux, Viktoriaviolett, Benzopurpurin, Anramin, Naphtholgrün, Malachitgrün, Hämatoxylin, Indigotine.

Eine grössere Anzahl von nur absorbierenden Stoffen, die bei den Paramäcien- und Fermentversuchen geprüft wurden, konnte hier nicht zu Schlüssen herangezogen werden, da die Substanzen in der Jodkalistärkelösung ausfallen. Es

---

[1]) E. Bukingham: Zeitschr. f. physikal. Chemie 14, 129.

sind dies die Stoffe: Azoblau, Methylviolett, Diamingrün, Parafuchsin, Rosanilin.

Was die erstere Frage anlangt, ob die Fluorescenz in ursächlichem Zusammenhange mit der Reaktion stehe, so müssen wir dieselbe mit ja beantworten; denn mit Ausnahme einiger Körper aus der Naphtholreihe (α-Naphtholtrisulfosäure, α-Naphthylamindisulfosäure, Natriumnaphthionat) zeigten alle Verbindungen mit Fluorescenz ziemlich intensiv die Jodabspaltung aus Jodkali im Lichte.

Schliesslich sei noch auf den Punkt hingewiesen, dass von den derzeit besten nichtfluoreszierenden Sensibilisatoren (Alizarinblaubisulfit, Glycinrot, Nigrosin) keiner die Reaktion gab; nur das Äthylrot könnte vielleicht nach langer Belichtung kleinste, nicht titrierbare Mengen von freiem Jod enthalten; es ist dies jedoch sehr zweifelhaft, denn es fehlt bei der Verfärbung des Äthylrots an der Sonne die sonst typische Blaufärbung an den Rändern.

Somit hängt diese Reaktion ebenso wie die photodynamische Wirkung nicht mit der photographischen Sensibilisierung zusammen.

Am Schlusse der Arbeit angelangt, ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor v. Tappeiner für die gütige Überlassung der Arbeit und die Übernahme des Referates, sowie Herrn Privatdozent Dr. Jodlbauer für die mannigfachen Anregungen meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Am 13. März 1879 zu Bruck in der Oberpfalz geboren, besuchte ich die Volksschule zu Neustadt a. D. Hernach studierte ich an den beiden humanistischen Gymnasien zu Regensburg, und erwarb das Reifezeugnis am Gymnasium zu Amberg im Juli 1899. Im Wintersemester 1899/1900 bezog ich die Universität Würzburg, machte dortselbst Ende des Sommersemesters 1901 meine ärztliche Vorprüfung. Im Wintersemester 1901/02 diente ich beim K. 2. Infanterie-Regiment unter der Waffe. Den Rest meiner Studienzeit brachte ich an der Universität München zu, wo ich die ärztliche Approbationsprüfung am 28. Juni 1904 bestand.

Josef Weiss.